

**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLOGIA  
FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA  
LABORATORIO DE DOLOR**

**ESTUDIO ISOBOLOGRÁFICO DE LA COMBINACIÓN METAMIZOL E  
IBUPROFENO EN DOLOR AGUDO EXPERIMENTAL**

**Luis Gonzalo Ovalle Vásquez**

**TRABAJO DE INVESTIGACION  
REQUISITO PARA OPTAR AL TITULO DE  
CIRUJANO-DENTISTA**

**TUTOR PRINCIPAL**

**Prof. Dr. Hugo F. Miranda G**

**TUTORES ASOCIADOS**

**Prof. Fernando Sierralta G.**

**Santiago - Chile  
2009**

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Profesor Hugo Miranda por permitirme desarrollar este trabajo. También al profesor Fernando Sierralta por sus atinados consejos; a los Sres. Alejandro Correa y José López por la paciencia y ayuda en el laboratorio y a todos los que de alguna forma colaboraron para que este trabajo resultara.

A tres grandes mujeres que, en algún momento de mi vida, fueron impulso para seguir este camino.

A los amigos que hice en el viaje, por estar cuando hizo falta.

Y a mi familia por creer, a pesar de todo.

## **INDICE**

	<b>PÁGINA</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
Vías del dolor	2
Fármacos para la analgesia	10
Mecanismo de acción	12
Acciones de los AINEs	17
Metamizol	18
Ibuprofeno	21
Combinación de fármacos	23
<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS</b>	<b>24</b>
Hipótesis	24
Objetivos	25
<b>MATERIAL Y METODO</b>	<b>26</b>
Test de la formalina orofacial	26
Estudio de la interacción antinociceptiva	27
<b>RESULTADOS</b>	<b>30</b>
<b>DISCUSIÓN</b>	<b>37</b>
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>41</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>42</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>48</b>

## **Introducción**

El dolor es una de las experiencias más desagradables que puede sufrir una persona. Resulta paradójico pues, que como profesionales llamados a evitar y eliminarlo de los pacientes que así lo requieren, sea justamente el miedo al dolor una de las principales causas alegadas por ellos para retrasar la visita y atención odontológica y, al mismo tiempo, sea su aparición o la incapacidad del paciente para controlarlo la principal causa de consulta. Cuando el dolor no es diagnosticado y manejado en forma apropiada, éste puede generar hostilidad, insatisfacción y alterar la calidad de vida familiar y personal del paciente. El mal manejo inicial del dolor agudo complica su pronóstico y tratamiento en el corto plazo, aumenta la cantidad de fármacos y/o técnicas usadas para valorarlo, aumenta los costos y favorece la cronificación del dolor, todo lo cual repercute inevitablemente en la relación odontólogo-paciente, la cual puede verse comprometida al punto de hacer al paciente inmanejable a posteriori, llevando a su alejamiento de nuestra consulta(1).

La definición actualmente aceptada de dolor es la entregada por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP), la cual lo describe como “una experiencia sensorial y emocional desagradable, con daño tisular real o potencial o descrita en términos de ese daño”, dando a entender esta última frase que, de persistir el estímulo doloroso en el tiempo, puede producirse daño tisular (2).

Por desgracia, los factores culturales y psicológicos que han llevado a esta triste asociación entre el odontólogo y el dolor son variados y difíciles de eliminar del inconsciente colectivo, mas aún para un único profesional enfrentado a sus pacientes, por lo que a falta de mejores expectativas al respecto en el corto plazo, nuestra mejor arma es contar con conocimientos

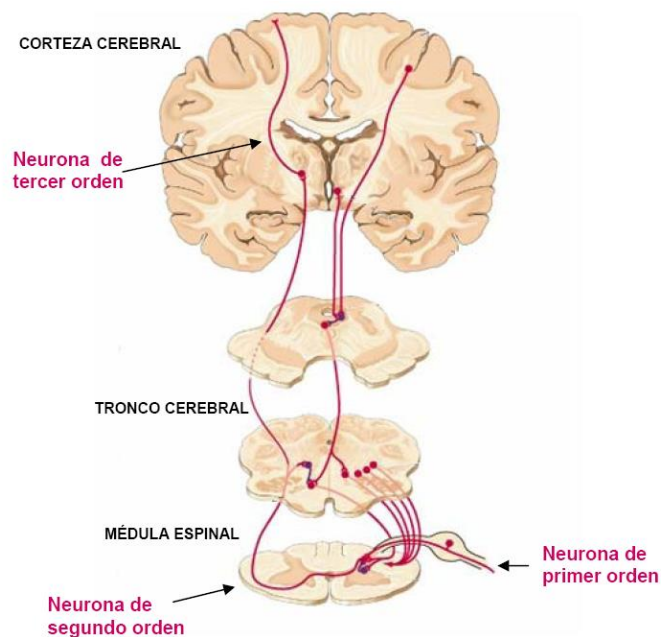
sólidos sobre nuestro quehacer, de manera de hacer de nuestro ejercicio una experiencia lo mas agradable posible para el paciente y así generar, con nuestra acción, cambios conductuales que nos permitan cambiar los prejuicios por confianzas. En este sentido, el manejo del dolor es uno de los principales factores de evaluación utilizados por los pacientes y un indicador de confianza a la hora de la referencia, lo que vuelve a éste una de las áreas de especial preocupación durante nuestro ejercicio.

Una de las principales armas para este objetivo en nuestra profesión es la administración de fármacos, siendo este tema el foco de atención de este trabajo. Sin embargo, a fin de comprender los métodos de control del dolor que justifican esta investigación, debemos antes explicar brevemente el fenómeno de su generación y transmisión desde el punto de vista fisiológico.

### **Vías del dolor**

El dolor es el resultado de una serie de complejos mecanismos, integrados e interconectados en todos los niveles del neuroeje, desde la periferia, vía asta dorsal, a las más altas estructuras cerebrales (3). El componente fisiológico del dolor se denomina nocicepción, concepto que involucra al proceso de transducción, transmisión y modulación de las señales nerviosas que se generan en respuesta a un estímulo nocivo y que son enviadas al sistema nervioso central (SNC). Este proceso resulta en la percepción consciente del dolor(1). A modo de simplificación, este sistema puede ser descrito como una cadena de tres neuronas: una neurona de primer orden que se origina en la periferia y que se proyecta a la médula espinal, una neurona de segundo orden que asciende desde la médula espinal, y una neurona de tercer orden que se proyecta a la corteza cerebral (ver figura 1). La distorsión entre estimulación y percepción involucra todos los pasos de la

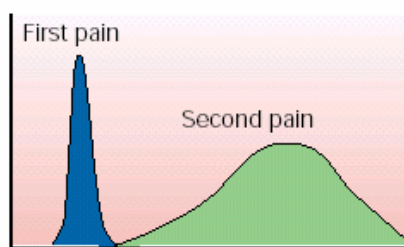
transmisión de la información dolorosa, desde el nivel periférico a los sitios supraespinales(1).



*Figura 1. Representación esquemática de neuronas aferentes que componen la vía nociceptiva.*

Los receptores involucrados en la nocicepción, acertadamente llamados nociceptores, corresponden a receptores preferentemente sensibles a estímulos nocivos o a estímulos que podrían llegar a ser nocivos si se prolongan en el tiempo. Morfológicamente, corresponden a terminaciones periféricas de neuronas bipolares que tienen sus somas ubicados en los ganglios raquídeos y su axón penetra en el asta dorsal del cordón espinal (1). Estas neuronas, también llamadas de primer orden, corresponden a fibras A $\delta$  y C, que a diferencia de las fibras A $\alpha$  y A $\beta$ , poseen un umbral de estimulación alto. No obstante, son susceptibles al fenómeno de sensibilización, con la consiguiente disminución del umbral de excitabilidad.

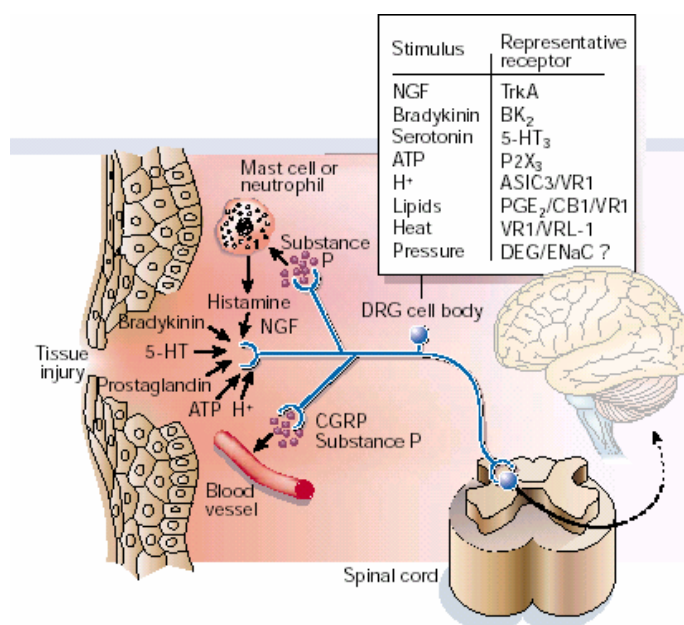
La fibra A $\delta$  responde a estímulos mecánicos y térmicos, en cambio, la fibra C es polimodal, es decir, además del estímulo nociceptivo puede transmitir sensaciones térmicas en todo su rango, táctiles o de presión. Las fibras A $\delta$  tienen un diámetro de 1,0 a 5,0 micrones, poseen una delgada cubierta de mielina y su velocidad de conducción es de 4 a 30 m/s. Por otro lado, las fibras C de 0,3 a 1,5 micrones de diámetro, carecen de mielina, y su velocidad de conducción del estímulo nervioso es de aprox. 0,5 a 2 m/s. Esta diferencia de velocidad explica la doble percepción de un estímulo doloroso; uno inicial breve, bien localizado llamado epicrítico, que es transmitido por las fibras A $\delta$  y otro profundo y difuso, denominado protopático, transmitido a su vez por las fibras C (1) (ver Figura 2).



**Figura 2.** Representación esquemática de la doble percepción dolorosa frente a la injuria.

Los nociceptores forman la unidad funcional del dolor y al ser activados por estímulos nocivos, las fibras nerviosas son despolarizadas, transformándose en impulsos sensoriales que alcanzan el asta dorsal de la médula espinal. Esta despolarización de las fibras aferentes primarias en el sitio de la injuria tisular causa la liberación de vesículas que contienen neuropéptidos como la sustancia P, que actúan de manera autocrina y paracrina para sensibilizar al nociceptor y aumentar su rango de estimulación (4). El daño

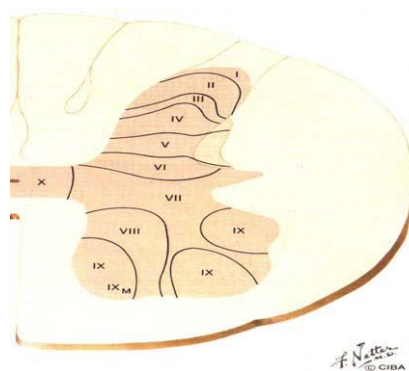
celular y la inflamación aumentan las concentraciones de otros mediadores tales como la histamina y serotonina, que son liberados desde los mastocitos desencadenando la síntesis de prostaglandinas(PGs), especialmente PGE2 y ácidos monohidroxiieicosatetraenoicos (HETE'S) desde células endoteliales, provocando hiperalgesia y otros efectos proinflamatorios(5,6). Las PGs actuarían sensibilizando las neuronas, facilitando la acción de aminoácidos excitatorios, como el glutamato. También se estimula la síntesis de bradiquinina, una de las sustancias más algógenas de este proceso, en conjunto con iones potasio e hidrógeno. Estos mediadores adicionales actúan sinérgicamente para aumentar la transmisión de impulsos nociceptivos a través de las fibras sensoriales aferentes(Figura 3) (7,8).



**Figura 3.** Mecanismos neuroquímicos de respuesta a nivel de la neurona aferente primaria (Tomado de Nature Vol. 43; Pág. 203).



En las astas posteriores de la médula se produce la sinapsis con la segunda neurona en la sustancia gelatinosa de Rolando. La sustancia gris medular de las astas posteriores fue clasificada por Rexed en 6 láminas. La zona sináptica de las fibras polimodales corresponde a las láminas II y III (ver Figura 4) (1).



**Figura 4.** Esquema de clasificación de Rexed del asta posterior medular.

Muchas fibras nociceptivas, antes de su ingreso a la sustancia gris, emiten colaterales constituyendo parte del haz de Lissauer. Estas colaterales forman sinapsis hasta dos segmentos medulares inferiores o superiores al del ingreso, lo que significa que la transmisión de una neurona primaria puede propagarse a varias raíces vecinas. Estos hechos tienen importancia, puesto que dan un sustrato anátomo-fisiológico a fenómenos como el dolor referido y a la modulación que sobre la transmisión nerviosa pueden ejercer centros superiores(1). Al interior del asta dorsal de la médula la transmisión de información nociceptiva entre neuronas ocurre mediante señales químicas mediadas por aminoácidos y neuropéptidos excitatorios e inhibitorios. Estos son producidos, almacenados y liberados en los terminales de aferencias primarias, interneuronas del asta dorsal y terminales de fibras descendentes del sistema

supraespinal. Entre estos agentes se incluyen: glutamato y aspartato, así como neuromoduladores, entre los que se pueden mencionar la somatostatina, péptido vasoactivo intestinal, colecistoquinina, ocitocina, galanina y angiotensina II. En las neuronas propias del asta dorsal de la médula espinal se han encontrado neuroquímicos excitatorios de nociceptores, tales como sustancia P y neurotensina, como también algunas sustancias inhibitorias de nociceptores, como encefalinas y otras endorfinas, somatostatina, GABA y muchos otros (1).

Las segundas neuronas dan origen a tres haces ascendentes contra laterales: el neoespinotalámico y el paleoespinotalámico, que conforman la vía espinotalámica, el haz espinoreticular y el haz espinomesencefálico (ver Figura 5). Algunos axones ascienden en forma ipsilateral y otros lo hacen a través de los cordones posteriores que conducen fibras propioceptivas, para luego cruzar a nivel del bulbo y ascender al tálamo. Esto puede explicar algunos de los fracasos de técnicas analgésicas tales como la cordotomía anterolateral (destrucción de los cruces descritos).

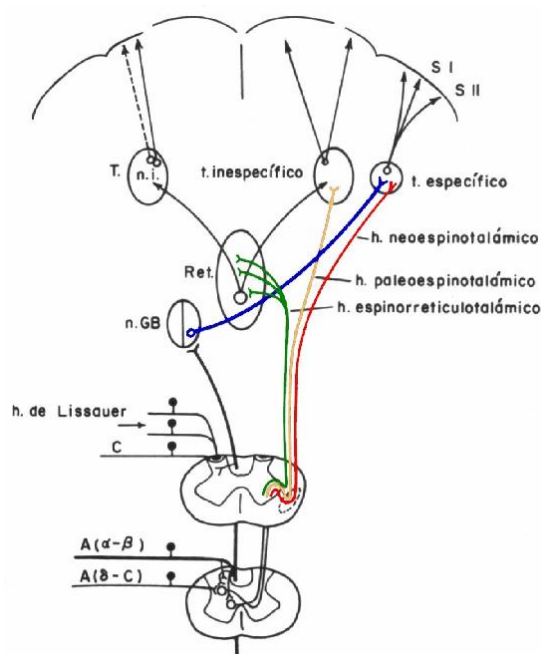
El haz neoespinotalámico hace sinapsis con los núcleos ventral posterior y ventral posterolateral del tálamo y de allí con la corteza parietal o somatosensorial (áreas S-I y S-II), cuya función es entregar la ubicación topográfica del dolor (1,8). El haz paleoespinotalámico, inicialmente corre junto al neoespinotalámico en una ubicación medial, se proyecta en forma bilateral a los núcleos inespecíficos del tálamo, mediales e intralaminares (parafascicular, núcleo reticular, parte del centro mediano y la porción media magno celular del geniculado medio), luego se proyecta a la corteza no específica, preferentemente a la corteza frontal, donde se conecta con el sistema límbico, hipotálamo, ganglios basales y córtex en general, lo que contribuye a la evaluación cualitativa del dolor. Es un sistema que transmite impulsos

relacionados con dolor sordo, pobremente localizado y se asocia con algunos componentes afectivo-motivacionales del dolor. Los analgésicos centrales actúan específicamente sobre el tipo de dolor transmitido por este tracto (1).

El haz espino-reticular corresponde a la comunicación más directa entre la médula espinal y la formación reticular. La formación reticular desempeña un papel importante en los mecanismos nociceptivos, siendo sus principales funciones: desencadenar los mecanismos de alerta, contribuir a la actividad neuronal de los aspectos motivacionales y afectivos del dolor y participar en reflejos somáticos y autonómicos motores. Hace sinapsis con la formación reticular a diferentes niveles: bulbo, protuberancia y zona mesencefálica, tiene que ver con las respuestas autonómicas reflejas y el componente afectivo-motivacional de la respuesta dolorosa.

El haz espino mesencefálico asciende contralateralmente en un 60 a 75% de sus fibras junto a los tractos anteriores, para conectarse con el mesencéfalo mediante la sustancia gris periacueductal, núcleos cuneiformes y parabraquiales, por esto los impulsos que ascienden por esta vía podrían desencadenar impulsos inhibitorios descendentes que resulten en analgesia (1).

Dado que del mesencéfalo se proyectan fibras al tálamo medial, ventrobasal y al sistema límbico, es posible que algunas neuronas de este tracto estén relacionadas con el componente discriminativo del dolor y otras que provoquen reflejos autonómicos y respuestas afectivo-motivacionales.



**Figura 5.** Representación esquemática de las vías nociceptivas aferentes.

Estudios anatómicos y fisiológicos en animales, así como estudios imagenológicos funcionales en humanos han mostrado que múltiples áreas corticales son activadas por estímulos dolorosos. Las siguientes áreas corticales han demostrado estar involucradas en el procesamiento del estímulo doloroso: corteza somatosensorial primaria, corteza somatosensorial secundaria y su vecindad en el opérculo parietal, ínsula, corteza cingular anterior y corteza prefrontal. Estas áreas procesan aspectos diferentes del dolor en paralelo. Se ha enfatizado en la importancia de separar la experiencia dolorosa en los componentes sensorial-discriminativo y afectivo-motivacional. El componente sensorial-discriminativo del dolor puede ser considerado una modalidad sensorial similar a la visión u olfacción. El componente afectivo-motivacional está cerca de ser considerado “sufrimiento del dolor”; está

claramente relacionado con aspectos de la emoción, excitación y la programación de la conducta (9).

### **Fármacos para la analgesia**

Para el tratamiento del dolor agudo con métodos farmacológicos se dispone de tres grupos de analgésicos (10):

1 *Anestésicos locales*: El bloqueo reversible de la conducción nerviosa a través de la inyección directa de anestésicos locales, proporciona una analgesia efectiva y segura.

2 *Opioides*: Dentro de éstos existen dos grandes grupos, los opioides menores o débiles, y los opioides mayores. Dentro del primer grupo se incluye a la codeína, que posee limitada acción analgésica, y al tramadol. Frente al dolor severo se utilizan los opioides mayores, que incluye a la morfina, metadona, petidina/meperidina, buprenorfina, y compuestos sintéticos como el fentanilo, sufentanilo, remifentanilo que poseen una potencia por lo menos cien veces superior a la morfina.

3 *Antiinflamatorios no esteroideos y analgésicos-antipiréticos*: Son en la actualidad el tratamiento de primera elección para el dolor leve y moderado. Detallaremos sus características debido a que fármacos pertenecientes a este grupo son el objeto de investigación del presente trabajo.

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) constituyen un variado grupo de moléculas con diferentes estructuras químicas, pero que tienen la particularidad de poseer ciertas acciones farmacológicas en común, como son principalmente los efectos analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios. La eficacia relativa de cada uno es diferente para cada acción;

así pues un fármaco puede mostrar una mayor actividad antiinflamatoria y menos analgésica que otro y viceversa. De ahí que su utilización en una u otra indicación terapéutica dependerá de su grado de eficacia y de su toxicidad (10).

<b>Salicilatos</b>	<b>Derivados indol-acéticos</b>	<b>Derivados arilo-acéticos</b>	<b>Ácidos enólicos</b>	
Ácido acetilsalicílico Clonixinato de lisina Benorilato Diflunisal Salicilamida Salsalato o ácido salicílico	Acemetacina Glucametacina Indometacina Proglumetacina Oxametacina Sulindac Tolmetin Difenpiramida	Aceclofenaco Diclofenaco Etodolaco Fentiazaco Ketorolaco Alclofenaco Zomepiraco	<b>Oxicanes:</b> Droxicam Meloxicam Piroxicam Tenoxicam Oxaprocina	<b>Pirazolonas:</b> Fenilbutazona Mofebutazona Oxifenbutazona Metamizol (Dipirona) Feprazona Nifenazona Suxibuzona Aminofenazona
<b>Derivados Arilpropiónicos</b>		<b>Fenamatos</b>	<b>Otros</b>	
Fenoprofeno Fenbufeno Flurbiprofeno Benoxaprofeno Suprofeno Ibuprofeno Ibuproxam Ketoprofeno	Dexketoprofeno Pirprofeno Naproxeno Oxaprozina Tiaprofeno Dexibuprofeno Fenoprofeno Flunoxaprofeno	Ácido meclofenámico Ácido mefenámico Ácido flufenámico Ácido tolfenámico Ácido niflúmico Etofenamato (tópico)	<b>Varios:</b> Nabumetona Glucosamina Nimesulida Proquazona Azapropazona Benzidamina (tópico) Feprazona	<b>Coxibs:</b> Celecoxib Rofecoxib Parecoxib Valdecoxib Etoricoxib  <b>Para-aminofenol:</b> Paracetamol

**Tabla N°1:** Clasificación de los AINEs según estructura química(18)

## **Mecanismo de acción**

Los principales efectos terapéuticos, así como muchas de las reacciones adversas de los AINEs pueden explicarse por su efecto inhibitorio de la actividad de las ciclooxigenasas (COXs) (11,12).

Las COXs son enzimas responsables de la transformación del ácido araquidónico (AA) que se encuentra en las membranas celulares en prostaglandinas (PG) y Tromboxanos (Tx), conocidos genéricamente como eicosanoides debido a que su precursor contiene 20 átomos de carbono. Algunos de estos eicosanoides participan, en diverso grado, en los mecanismos patogénicos de la inflamación, el dolor y la fiebre, por lo que la inhibición de su síntesis por parte de los AINEs lleva a la eliminación o atenuación de ellos (11,12).

Es importante hacer notar que los eicosanoides son solo una parte de los mediadores celulares implicados en la modulación de una determinada función o proceso patológico, y que los AINEs no inhiben el total del conjunto de la cascada biosintética que tiene su origen en el AA. De esta forma, es posible comprender las limitaciones de estos fármacos en el control de procesos fisiológicos caracterizados por la intervención de múltiples mediadores (11,12).

El AA se encuentra fundamentalmente formando parte de los fosfolípidos de la membrana celular. En respuesta a una amplia variedad de estímulos ya sean físicos, químicos o mecánicos (daño tisular, hipoxia, procesos de respuesta inmune, etc.), el AA es liberado y posteriormente convertido vía COXs, lipooxigenasas, catálisis enzimática del citocromo P450 y la vía del isoprostato, en los diversos mediadores lipídicos conocidos como eicosanoides (12).

En la vía metabólica de las COXs, ambas isoformas catalizan el primer paso, asociado a la biosíntesis de las PGs, Tx y otros eicosanoides. La producción de estos, a su vez, depende de la disponibilidad de AA. La liberación de AA desde los fosfolípidos es mediada por fosfolipasas, fundamentalmente la fosfolipasa A2. Una vez liberado éste, las isoformas de COX catalizan dos reacciones secuenciales. La reacción inicial de la COX convierte el AA en Prostaglandina G2 (PGG2). Posteriormente, una reacción vía peroxidasa (POX) reduce PGG2 a Prostaglandina H2 (PGH2), la cual a su vez es convertida por diferentes sintetasas e isomerasas celulares específicas en otros 5 eicosanoides primarios biológicamente activos que incluyen: PGD2, PGE2, PFF2 $\alpha$ , prostaciclina (PGI2) y Tromboxano A2 (TxA2). Estos productos actúan como segundos mensajeros por interacción con receptores de PGs acoplados a proteína G y otros receptores (12,13).

Las PGs son los productos finales del metabolismo de ácidos grasos producidos por la vía de las COXs, y desde hace mucho se sabe que estas se comportan como importantes mediadores fisiológicos y patológicos, implicados en numerosas áreas de interés terapéutico tales como: inflamación, dolor, fiebre, cáncer, glaucoma, disfunción sexual masculina, osteoporosis, enfermedades cardiovasculares, etc. (11,12).

Todos los AINEs inhiben las COXs de forma reversible a excepción de ácido acetilsalicílico (AAS) que lo hace de forma irreversible, obligando la síntesis de novo de las COXs. El posterior descubrimiento de la existencia de, al menos, dos isoformas de COXs (COX-1 y COX-2) con localización y funciones diferentes, llevó al desarrollo de un nuevo enfoque terapéutico, basado en el diseño de AINEs con selectividad sobre una u otra isoforma y, a su vez, a una nueva forma para su clasificación basada en la afinidad relativa por una u otra forma de COX (11,12,13).



- **Inhibidores selectivos COX-1:** Dosis bajas de aspirina
  
- **Inhibidores no selectivos de COX-1:** Aspirina, indometacina, piroxicam, tenoxicam, naproxeno, ketoprofeno, ibuprofeno, diclofenaco, etc. (en general, la mayoría de los AINEs).
  
- **Inhibidores selectivos de COX-2:** Meloxicam, nabumetona, nimesulida.
  
- **Inhibidores específicos de COX-2:** Celecoxib, Lumiracoxib.

**Tabla Nº2:** Clasificación de los AINEs según forma afinidad COX (13).

COX-1 es una isoforma constitutiva, producto de un gen que transcribe de manera estable y continua. Es la encargada de la síntesis de PGs implicadas en la homeostasis general, expresándose en altos niveles en células y tejidos tales como endotelio, monocitos, plaquetas, túbulo colector renal y vesículas seminales. Las concentraciones de esta enzima se mantienen constantes dentro de una misma población celular, pudiendo aparecer pequeños incrementos de dos a cuatro veces asociados a estímulos hormonales o factores de crecimiento (11,12,13).

COX-2 en cambio, es producto de un gen, con elevado control de regulación (12). Originalmente se pensó que su presencia solo era inducida por mediadores de la inflamación tales como lipopolisacáridos (LPS), Interleuquina 1 (IL-1) o Factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), en diversos tipos de células y tejidos entre ellos endotelio vascular, osteoclastos, células endoteliales, sinoviales, reumatoides, monolitos y macrófagos. También se le

responsabilizaba por la producción de prostanoïdes durante la inflamación y el cáncer. Sin embargo, cada vez aparecen más ejemplos de expresión constitutiva de la COX-2 en riñón, médula espinal, cerebro y endotelio. En este último caso, COX-2 media la síntesis de prostaciclina, siendo considerada su inhibición por parte de los coxibs la responsable de las alteraciones cardiovasculares asociadas con su administración (11,12). Los AINEs de uso más frecuente inhiben a concentraciones terapéuticas la actividad enzimática de ambas isoformas de COX de manera no selectiva (12,13).

Algunos datos sugieren la existencia de un tercer tipo de COX, COX-3, la cual es una variante de COX-1 generada por corte y empalme diferencial, la cual mantiene un intrón en su ARN mensajero, siendo ésta sensible a paracetamol y metamizol, a los que se denominan como inhibidores selectivos de COX-3. En el ser humano se encontró que el RNA de COX-3 es más abundante en la corteza cerebral y corazón (14). Su rol exacto aún no está totalmente definido, debido a que su existencia es controversial, ya que ésta no sería relevante por su baja probabilidad de su expresión en seres humanos, sin embargo, varios autores informan lo contrario (15)

La inhibición de COX-1 no es solo eficaz contra el dolor, fiebre e inflamación, sino que también induce efectos secundarios no deseados, debido al bloqueo de las funciones fisiológicas en las que ésta participa. El descubrimiento de COX-2, asociado a la idea inicial de que esta solo se expresaba durante la inflamación, llevó al desarrollo de inhibidores selectivos de esta isoforma, los cuales tenían una eficacia similar y menores efectos adversos (12,13). Sin embargo, hoy se sabe que COX-2, es también constitutiva en algunos tejidos, y que COX-1 puede estar sobre expresada en la inflamación (16), lo que implica la necesidad de inhibición de ambas isoformas a fin de lograr una real reducción del dolor. Por las mismas razones, la inhibición de

cualquiera de ellas podría inducir cierto grado de efectos secundarios no deseados (12,13). Se han hecho observaciones sobre la acción analgésica de los inhibidores selectivos de COX-2, no encontrándose ventaja de ellos sobre los AINES convencionales no selectivos, en el tratamiento de la odontalgia(17), artritis, o en el uso terapéutico de estos fármacos en tratamientos similares. La potencia relativa y efectividad de los AINES con diferente selectividad para las isoenzimas COX es, por tanto, poco clara (18).

Aunque se ha asumido que los efectos de los AINEs son principalmente resultado de su acción sobre la síntesis local de PGs, la evidencia recogida a partir del anuncio de COX-3 y otras variantes de COX generadas en el organismo como resultado de corte y empalme diferencial, avala cada vez más la existencia de mecanismos de acción central capaces de aumentar el efecto analgésico periférico de los AINES, los cuales podrían ser el resultado de la interferencia sobre la producción de prostaglandinas en el SNC (13,19).

Dentro de las reacciones adversas de los AINEs, se destaca el elevado número de alteraciones gastrointestinales, derivado de la inhibición de COX-1. Las más graves son debidas a su capacidad de lesionar la mucosa tanto gástrica como duodenal, provocando la aparición de erosiones y úlceras. Otros efectos gastrointestinales menos graves y más frecuentes son: dolor gástrico, gastritis, pirosis, dispepsia, diarrea o estreñimiento. Las lesiones de la mucosa gástrica o duodenal son en la mayoría de los casos asintomáticas pero pueden originar complicaciones graves como hemorragias y perforaciones. Existen una serie de factores de riesgo que predisponen a estas complicaciones: edad superior a 60 años, historial previo de úlcera péptica, hemorragia o perforación, utilización de AINEs a dosis elevadas, de acción prolongada o muy ulcerogénicos, tratamiento concurrente con corticoides o anticoagulantes y la existencia de alguna enfermedad de base grave como diabetes, hipertensión, u

otra. Desde un punto de vista práctico, para evitar esta toxicidad debe tenerse en cuenta que existen diferencias a la hora de producir este efecto adverso entre los AINEs (10).

Los efectos secundarios renales más frecuentes de los AINEs son la aparición de edema y la retención de sodio. Ocurren generalmente poco después de iniciar el tratamiento y normalmente poseen escasa repercusión clínica. La toxicidad renal de los AINE ocurre generalmente en situaciones patológicas en las que su perfusión está comprometida y el riñón incrementa la síntesis de prostaglandinas, tales como los estados de hipotensión, cuando existe una hiperactividad del sistema renina-angiotensina o del sistema nervioso simpático. En estas situaciones, se pueden producir diversas nefropatías de carácter agudo como por ejemplo el síndrome nefrótico y la necrosis tubular aguda (10).

Las reacciones adversas hematológicas de los AINE no son muy frecuentes, pero deben tenerse en cuenta por su gravedad, como es el caso de la anemia aplásica o la agranulocitosis. Otra de las reacciones adversas que pueden presentar los AINE son las reacciones de hipersensibilidad, las que se pueden manifestar de diversas maneras. Entre estas destacan la rinorrea, vasodilatación facial y asma bronquial, y pueden llegar a ser más grave desarrollando desde un angioedema hasta un shock anafiláctico(10).

### **Acciones de los AINEs (12):**

- Acción analgésica: a nivel central inhiben las prostaglandinas espinales y cerebrales. A nivel periférico, los AINEs alivian el dolor mediante la supresión de la síntesis de prostaglandinas, bloqueando la sensibilización de las terminaciones nociceptivas.

- **Acción antipirética:** la fiebre puede ser resultado de una infección, de daño tisular, inflamación u otro estado patológico. Un evento común de estas condiciones es la formación de citoquinas, y éstas van a provocar la síntesis de PGE2 a nivel del hipotálamo, lo que va disparar el termostato hipotalámico provocando un aumento en la generación de calor y una disminución en la pérdida del mismo. Los AINEs suprimen la fiebre causada por agentes que aumentan la síntesis de citoquinas y posteriormente de PGE2, inhibiendo éstas.

- **Acción antiinflamatoria:** los AINEs inhiben la adhesión y la atracción de los neutrófilos promovidas por los mediadores químicos, disminuyendo así el daño tisular y la inflamación.

### **Metamizol**

Metamizol (también conocido como dipirona) es un analgésico y antipirético de la familia de los derivados pirazolínicos introducido a la práctica clínica en 1922. Se encuentra disponible en presentaciones de uso oral, rectal e intravenoso. Está indicado para condiciones de dolor severo, en especial aquellos asociados con espasmos del músculo liso o cólicos que afectan los tractos gastrointestinal, biliar o urinario, estando bien documentada su efectividad en el control del dolor visceral. Más aun, es útil en el tratamiento del dolor asociado al cáncer y migrañas, así como en fiebre refractaria a otros tratamientos(15). El metamizol es una prodroga. Luego de su administración vía oral, es rápidamente hidrolizada en el jugo gástrico para formar su metabolito principal, la 4-metil-amino-antipirina (MAA) y absorbida en esta forma. La MAA es convertida a su vez en una serie de otros metabolitos, incluyendo 4-formil-amino-antipirina (FAAP) y 4-amino-antipirina (AA), siendo esta última acetilada

a 4-acetil-amino-antipirina (AAAP) por la enzima N-acetil-transferasa. MAA y AA (esta última de forma muy débil) son los únicos metabolitos activos, y los que confieren a este fármaco su acción farmacológica (15).

Ninguno de los metabolitos se liga fuertemente a proteínas plasmáticas, siendo excretados predominantemente por el riñón. La acción analgésica de metamizol alcanza su máxima potencia 40 a 60 minutos después de su ingestión, es efectivo por 6 a 8 horas, lo cual aumenta con dosis sobre 1.5 g. Altas dosis tienden a prolongar el efecto analgésico. La analgesia que produce metamizol es dosis-dependiente, o sea, a mayor dosis, en general del orden de 25-30 mg/kg, mayor eficacia analgésica. Un malestar y/o posible hipotensión arterial es relatado con su empleo por vía oral, pero raramente observado cuando se administra vía endovenosa en bolo de manera lenta(15).

Se contraindica en pacientes con conocida hipersensibilidad al compuesto y debe administrarse bajo supervisión médica en pacientes con enfermedades hepáticas o renales, embarazadas y lactantes. Su eficacia analgésica es similar a la de la aspirina a igualdad de sus componentes base y vía de administración, pero a diferencia de ésta, no produce irritación gástrica ni poseen riesgo hemorrágico asociado. Se caracteriza además por una baja toxicidad gastrointestinal y renal, y si bien uno de los factores mas influyentes en el abandono de su uso ha sido el riesgo de aparición de agranulocitosis producto de diversos estudios llevados a cabo en Suecia y otros países y la consiguiente alarma pública, el estudio epidemiológico conocido como Informe Boston o International Aplastic Anemia and Agranulocytosis Study (IAAAS) muestra que el riesgo real de esta complicación es extremadamente bajo(20).

A diferencia de los AINES acídicos, metamizol tiene acción analgésica y antipirética, pero baja acción antiinflamatoria, como se ha visto en diferentes

estudios en animales. Debido a eso, se ha propuesto en reiteradas ocasiones la existencia de mecanismos centrales que explicarían su acción analgésica (21). Algunos autores han propuesto, en cambio, que la acción del fármaco sobre la inflamación y el dolor estaría ligada a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas tanto a nivel periférico como central. Se ha demostrado que metamizol revierte, de manera dosis dependiente, la hiperalgesia causada por la inyección subplantar de carragenina y PGE2 en pata de rata, por un mecanismo que parece principalmente mediado por la vía del óxido nítrico (NO). Por el contrario, los resultados de otra investigación en la que el dolor fue producto de inducción por formalina, sugieren que la antinocicepción causada por metamizol no tiene relación con el NO ni sustancias relacionadas. También se ha informado que la antinocicepción periférica inducida por esta droga en ratas estaría asociada a la activación de canales de  $K^+$  sensibles a ATP. Por otra parte, existen estudios que entregan evidencia farmacológica sobre la participación de canales de  $Ca^{+2}$  en el mecanismo de acción antinociceptivo periférico inducido por él. De esta misma forma, se puede seguir sumando informes que mostrarían diferentes mecanismos de acción para el metamizol: activación del sistema colinérgico muscarínico; una combinación de efectos espinales y periféricos sobre la neurona sensitiva periférica primaria por estimulación de la vía arginina/GMP<sub>c</sub> y una interferencia en la actividad nociceptiva del glutamato a nivel espinal. En relación al sistema opioide, se ha informado que el efecto antinociceptivo de metamizol, microinyectado en la sustancia gris periacueductal, es mediado por opioides endógenos del sistema de control descendente del dolor (sustancia gris periacueductal, médula rostral ventromedial y médula espinal). Sin embargo, ya que este fármaco suele no ser administrado de esta forma, se realizó otro estudio en donde fue inyectado vía endovenosa y se aplicó luego naloxona (antagonista opioide) en diferentes

niveles de la vía descendente del dolor para determinar la participación de opioides endógenos en su acción. Los resultados mostraron que metamizol, al ser administrado endovenosamente, causa antinocicepción por activación de circuitos opioides a lo largo del sistema de control descendente del dolor(15).

## **Ibuprofeno**

El ibuprofeno es un AINE derivado del ácido arilpropiónico, con potencia similar a la de la aspirina en cuanto a su nivel de bloqueo COX. Posee buenas propiedades antipiréticas, analgésicas y antiinflamatorias, si bien estas últimas son menores a las observadas en estudios en animales. Sus indicaciones más frecuentes son para el alivio sintomático del dolor de cabeza (cefalea), dolor dental (odontalgia), dolor muscular (mialgia), dolor neurológico de carácter leve, síndrome febril y dolor tras cirugía (postquirúrgicos); en tendinitis y bursitis agudas y la dismenorrea primaria; en el tratamiento sintomático de la osteoartritis, espondilitis anquilosante, artritis gotosa aguda y artritis reumatoide(10). Su invención y el descubrimiento de sus características farmacológicas derivó del trabajo realizado en los años 50 por la casa Boots en Inglaterra para encontrar un sustituto eficaz para la aspirina y los corticoides en el tratamiento de esta última enfermedad, debido a las numerosas reacciones adversas asociadas a estos fármacos, en especial a las alteraciones gástricas derivadas de altas dosis de aspirina y la inmunodepresión asociada al uso permanente de corticoides(10,22). El compuesto fue descubierto en 1959 por Stewart Adams en conjunto con John Nicholson, Jeff Bruce Wilson, Andrew RM Dunlop y Colin Burrows, y patentado en 1961.

Ibuprofeno fue comercializado por primera vez en el Reino Unido en 1969 en momentos que las fuertes reacciones adversas que altas dosis de



aspirina provocaban en pacientes con artritis reumatoidea al ser tratados con ésta eran tema de discusión en los círculos de investigación y empezaban a volverse tema de dominio público. Habiéndose probado a dosis tan altas como 2400 mg/día, el ibuprofeno ha mostrado ser uno de los AINES más seguros existentes. Se introdujo en EE.UU. en 1974, y desde ahí, se ha difundido al resto del mundo. El nivel de seguridad del ibuprofeno se ha mantenido en el tiempo, al punto que se convirtió en uno de los primeros fármacos de venta libre en los países angloparlantes en la década de los 80(22). Además de sus conocidos efectos analgésicos y antipiréticos, las investigaciones recientes sugieren que su uso a largo plazo está asociado con un menor riesgo de sufrir de la Enfermedad de Parkinson (23) y menores riesgos de diversos tipos de cáncer(24). Durante los 80, el debate entre fármacos racémicos versus enantiómeros simples llevó a la publicación de pautas que recomendaban el desarrollo de los enantiómeros por parte de la FDA y otras agencias regulatorias. Puesto que el efecto farmacológico del ibuprofeno demostró ser completamente atribuible al enantiómero S(+), se introdujo al mercado el dexibuprofeno en 1994, pese a lo cual la forma racémica sigue siendo la más vendida a nivel mundial y la de primera elección a nivel profesional(22).

Ibuprofeno ha sido utilizado en individuos con antecedentes de intolerancia gastrointestinal a otros AINEs. Sin embargo, el margen de intolerancia sigue siendo de 10 a 15%. Los efectos adversos en el tubo digestivo se ven en un 5 a 15% de los pacientes que reciben ibuprofeno, siendo los más comunes dolor epigástrico, náuseas, pirosis y sensación de "distensión" de vías gastrointestinales. Sin embargo, la incidencia de tales efectos es menor que las de la aspirina e indometacina. Otros efectos colaterales menos frecuentes incluyen: trombocitopenia, lesiones cutáneas, cefalea, mareos y visión borrosa y, en algunos casos, ambliopía tóxica, retención de líquido y

edema. Las personas que presentan perturbaciones oculares deben interrumpir el consumo del fármaco. No se recomienda su uso en embarazadas ni en mujeres que estén amamantando(10).

### **Combinación de fármacos**

Al administrar dos fármacos simultáneamente, sus efectos pueden ser. aditivos, es decir, corresponden a la simple suma de los efectos que produce cada uno de ellos separadamente; subaditivos o antagónicos, lo que es un efecto menor que la suma de cada agente por separado; o sinérgico o supraaditivo, que es un efecto mayor que la suma de los efectos por separado de cada droga.

La combinación de fármacos de eficacia probada es una estrategia destinada a cumplir uno o más objetivos terapéuticos, tales como facilitar el cumplimiento de paciente con el tratamiento, simplificar la prescripción, mejorar la eficacia sin incrementar los efectos adversos o bien disminuir los efectos adversos manteniendo la eficacia(25).

En este trabajo se evaluó la interacción entre metamizol e ibuprofeno usando el análisis isoblográfico en un modelo de dolor orofacial inducido por la administración de formalina al 2 %.

## **Hipótesis y Objetivos**

### **1. Hipótesis:**

La administración (i.p) de ibuprofeno o metamizol, y su combinación en proporción 1:1 de su dosis efectiva 50 ( $DE_{50}$ ) producen actividad analgésica de naturaleza supraaditiva, en el ensayo de la formalina orofacial.

**Objetivos:****1.1 Objetivo general**

Estudiar la actividad antinocioceptiva del ibuprofeno, metamizol y de su mezcla en el ensayo algesiométrico de la formalina orofacial en ratones.

**1.2 Objetivos específicos**

- Evaluar la antinocicepción inducida por la administración i.p de ibuprofeno en el test de formalina orofacial.
- Evaluar la analgesia producida por la administración i.p de metamizol en el mismo ensayo
- Estudiar el tipo de interacción analgésica que se obtiene al administrar en conjunto Ibuprofeno con metamizol en el ensayo antes citado.

## **MATERIAL Y METODO**

Se utilizaron 206 ratones (*Mus Musculus*) machos de la cepa CF/1 de 28 a 30 g de peso, habituados al ambiente del laboratorio al menos dos horas antes del experimento, de acuerdo al protocolo CBA N° 238 FMUCH aprobado por la Comisión de Ética de la Facultad de Medicina (cada animal recibió solamente una dosis de las drogas, las observaciones fueron efectuadas en forma ciega, aleatoria y controladas con solución salina). Se deja constancia que, basándose en las normas éticas internacionales que rigen este tipo de experimentación, el número de animales utilizados fue el mínimo estrictamente necesario para un correcto análisis estadístico. Los animales se sacrificaron después del experimento mediante dislocación cervical por personal experimentado.

Los fármacos se administraron i.p en un volumen constante de 10 ml/ kg, 30 minutos antes del ensayo algesiométrico, ya que existe evidencia que demuestra que es el tiempo en que se alcanza el efecto analgésico máximo (25,26,27). Los animales usados como grupo control fueron tratados con una solución salina, i.p incluyéndose al menos, 2 ejemplares en cada grupo experimental.

### **Test de la formalina orofacial**

La evaluación de la actividad antinocioceptiva se efectuó utilizando el test algesiométrico orofacial de la formalina modificado de Luccarini(28), que mide el dolor originado en la estimulación del nervio trigémino. Para ello se realizó una inyección subcutánea de 20 µL de una solución de formalina al 2%, en el labio superior derecho del animal. Ello induce un sostenido frotamiento de la zona

inyectada y un vigoroso restregamiento de la cara en el área perinasal. La concentración fue escogida basado en el estudio de Luccarini et al(28), donde se observa que ésta es suficiente para provocar una respuesta con un correcto grado de expresividad y posibilidad de interpretación, y con el fin de evitar sufrimiento excesivo al animal. Los ratones luego fueron colocados en un cilindro diseñado para la observación, y se registró por medio de un cronómetro digital el tiempo total que se frotó el área perinasal, durante los 5 minutos inmediatos a la inyección, que corresponde a la fase algésica aguda (Fase I) . Luego se registró por 10 minutos a partir de los 20 minutos de la inyección y hasta los 30 minutos, el tiempo durante el cual los animales se frotan el labio comprometido que corresponde a la fase inflamatoria y que mide el dolor crónico (fase II). No se contabilizó el tiempo entre la fase I y II debido a que el ratón se encuentra en un periodo de quietud(28). El tiempo total de frotamiento (grooming) en cada período (en segundos) se convirtió a porcentaje del máximo efecto posible (MPE) por medio de la siguiente fórmula:

$$\%MPE=100-(\text{tiempo grooming post-droga}/\text{tiempo grooming control salino}) \times 100$$

La dosis que produce el 50% del MPE ( $DE_{50}$ ) fue calculada por análisis de regresión lineal de la curva obtenida por el trazado del logaritmo de la dosis versus %MPE.

### **1. Estudio de la interacción antinocioceptiva**

Para la evaluación de la actividad antinocioceptiva, se construyeron curvas dosis-respuesta del AINE administrado individualmente por vía i.p con un mínimo de 6-8 animales por cada uno, de al menos 4 dosis logarítmicas

crecientes. Los animales controles fueron inyectados con una solución salina al 0,9%. Luego, se obtuvo y analizó la curva dosis-respuesta de la coadministración de metamizol con Ibuprofeno, en mezclas de 1/2, 1/4, 1/8, y 1/16 en proporción fija 1:1 de sus correspondientes valores de  $DE_{50}$ .

Para la evaluación de las interacciones se utilizó el método isoblográfico del laboratorio, en la forma descrita por Tallarida(29), que corresponde a representaciones gráficas de dosis isoeffectivas para un efecto determinado de cada uno de los fármacos utilizados individualmente y combinado. Este tipo de análisis permite conocer si existe interacción, de que tipo y cuál es su magnitud.

Para la combinación de las drogas se determinó la  $DE_{50}$  mediante el análisis de regresión lineal de su curva dosis-respuesta. Esta dosis se comparó estadísticamente con la dosis que representa teóricamente la adición simple de efectos, que se obtiene según la siguiente fórmula:

$$DE_{50} \text{ aditividad teórica} = DE_{50} \text{ droga } 1 / (P1+R \times P2)$$

Donde:

R: relación de potencia entre las drogas administradas individualmente

P1: proporción de metamizol

P2: proporción de ibuprofeno en la mezcla

El punto experimental resultante fue graficado en un sistema de coordenadas cartesianas, que contiene una línea que conecta la  $DE_{50}$  de ibuprofeno en la abscisa con la  $DE_{50}$  de metamizol en la ordenada (línea de aditividad simple o teórica). La región del gráfico donde se ubica el punto experimental determina el tipo de interacción. En el caso de que la interacción

sea sinérgica (supraaditiva), el punto experimental se ubica bajo la línea de aditividad. En el caso contrario, si resultase una interacción antagónica, el punto se ubicará sobre la línea de aditividad. Por último, si el punto se ubica en un sector cercano a la línea, la interacción será de simple aditividad. Al mismo tiempo, el programa calcula el índice de interacción entre los fármacos de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de interacción} = DE_{50} \text{ experimental} / DE_{50} \text{ teórico}$$

Si el valor resultante es menor que 1 corresponde a una interacción sinérgica; al resultar igual a 1 la interacción es aditiva, y si es mayor que 1, es antagónica.

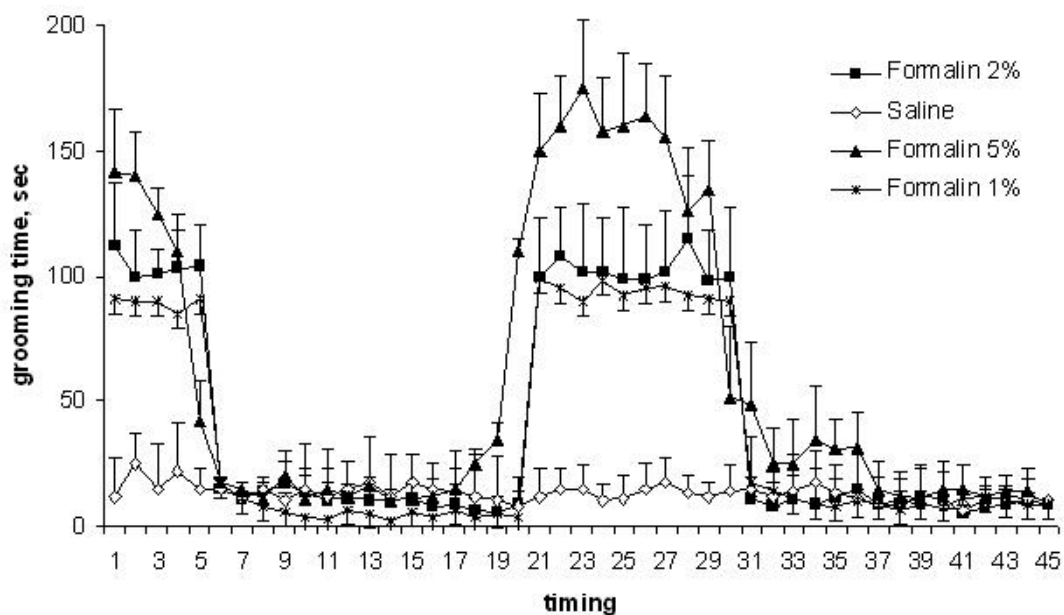
Los resultados se expresaron como promedio  $\pm$  error estándar del promedio (EEM), o bien como promedio con su correspondientes 95% de límite o intervalo de confianza (95% LC). El análisis estadístico de los datos obtenidos de las curvas dosis-respuestas se efectuó con un programa computacional del laboratorio (Pharm Tools Pro version1.27, The McCary Group Inc.), basado en Tallarida (29), y la significación estadística se determinó por análisis de varianza y pruebas t de Student, considerándola a un nivel de 5% ( $p < 0,05$ ).



## Resultados

- **Grupo Control:**

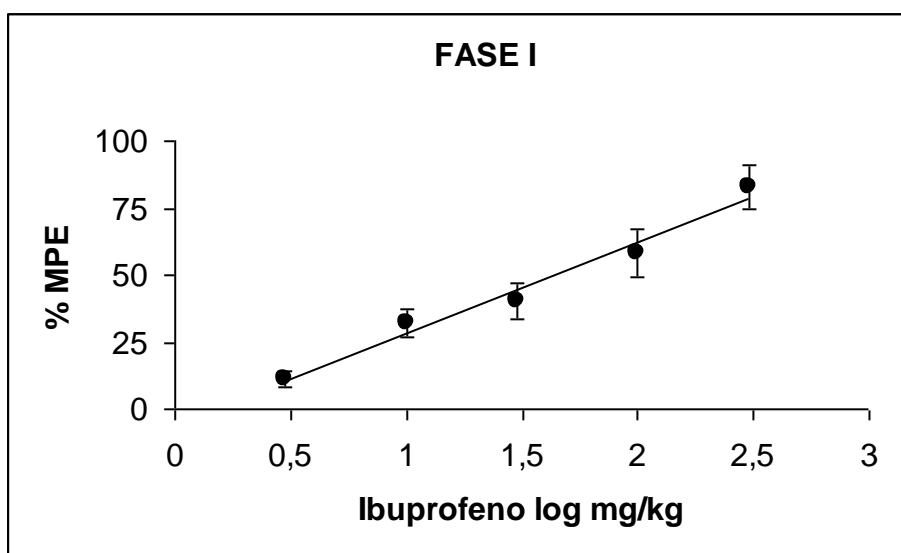
La administración de solución salina al 0,9% vía i.p. 30 minutos antes de la solución de formalina, produjo un tiempo de frotamiento de la zona labial y perinasal derecha de  $95.3 \pm 3.45$  seg. (n=33) para la fase I y de  $101.76 \pm 3.62$  para la fase II (n=29). Estos datos se muestran en el Gráfico 1.



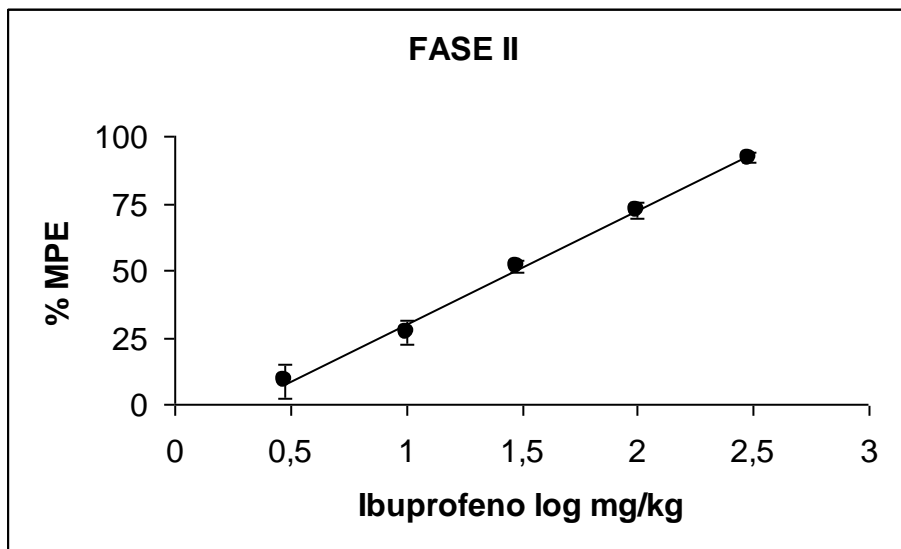
**Gráfico 1.** Curso temporal del ensayo de la formalina orofacial en ratones. Cada punto es el promedio  $\pm$  EEM de 6-8 animales.

### Grupo tratado con ibuprofeno

La administración i.p. de ibuprofeno, resultó en una actividad antinocioceptiva dosis-dependiente tanto en la fase algésica aguda (Fase I) como en la fase inflamatoria (fase II), lo que se observa en los gráficos 1 y 2 respectivamente. La  $DE_{50}$  resultó ser de  $43,88 \pm 6,22$  mg/kg ( $n= 24$ ) para la fase I, mientras que en la fase II resultó ser de  $30,13 \pm 1,60$  mg/kg ( $n= 24$ ) (ver Tabla 3).



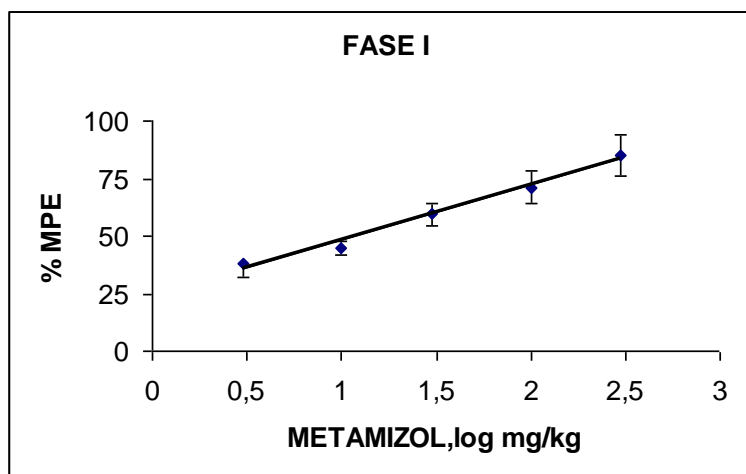
**Gráfico 2:** Curva dosis respuesta para la administración i.p. de ibuprofeno en la fase I del test de formalina orofacial. Cada punto representa el promedio  $\pm$  EEM de al menos 6 animales (MPE: máximo efecto posible).



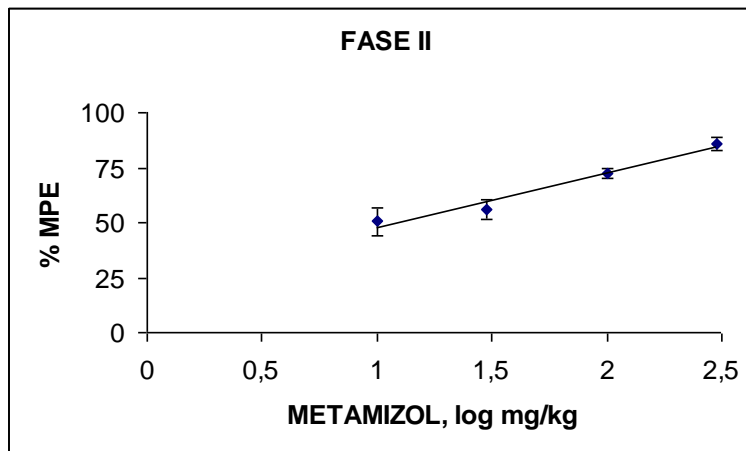
**Gráfico 3:** Curva dosis respuesta para la administración i.p. de ibuprofeno en la fase II del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio  $\pm$  EEM de al menos 6 animales. (MPE: máximo efecto posible).

- **Grupo tratado con metamizol :**

La administración i.p. de metamizol, indujo una actividad antinocioceptiva dosis-dependiente tanto en la fase algésica aguda (fase I), como en la fase inflamatoria (fase II), lo que se observa en los gráficos 3 y 4 respectivamente. La  $DE_{50}$  resultó ser de  $12,02 \pm 1,49$  mg/kg en la fase I (n= 24), mientras en la fase II resultó ser de  $12,26 \pm 3,07$  mg/kg (n=24).



**Gráfico 4:** Curva dosis respuesta para la administración i.p. de Metamizol en la fase I del test de la formalina orofacial. Cada punto representa el promedio  $\pm$  EEM de al menos 6 animales. MPE: Máximo efecto posible.

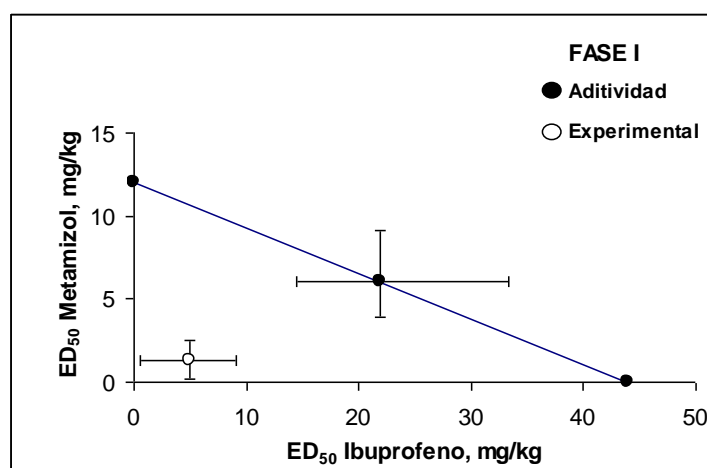


**Gráfico 5:** Curva dosis respuesta para la administración i.p. de metamizol en la fase II del test de formalina orofacial. Cada punto representa el promedio  $\pm$  EEM de al menos 6 animales. MPE: Máximo efecto posible.

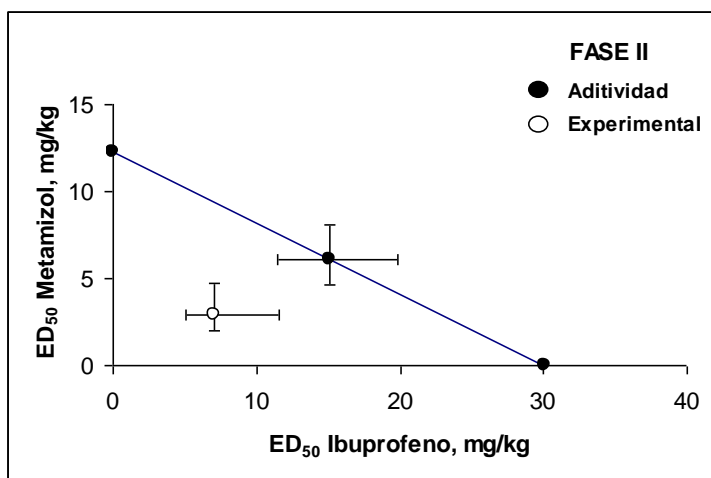
- **Grupo tratado con mezcla ibuprofeno/metamizol**

La coadministración i.p. de la mezcla ibuprofeno con metamizol en proporción 1:1 de sus correspondientes  $DE_{50}$ s, originó una actividad antinocioceptiva dosis dependiente tanto en 5 y 6 respectivamente. La  $DE_{50}$  experimental obtenida fue de  $6,24 \pm 1,03$  mg/kg para la fase I (algésica) ( $n=24$ ) y de  $9,96 \pm 0,85$  mg/kg para la fase II, (inflamatoria) ( $n=24$ ). Los isobogramas correspondientes a la interacción de estos AINEs, se observan en los gráficos 6 y 7, respectivamente.

Los índices de interacción obtenidos a partir del análisis isobolográfico de la combinación ibuprofeno con metamizol, resultaron ser de 0,224 en la Fase I y de 0,470 en la Fase II. Todos estos resultados se muestran en la Tabla N°3.



**Gráfico 6:** isoblograma de la interacción entre ibuprofeno y metamizol, en el test de la formalina orofacial, en la fase I. El (●) en la línea de aditividad representa el punto de aditividad teórica de la mezcla y el (O) el de la aditividad experimental, cada uno en sus correspondientes límites de confianza al 95%.



**Gráfico 7:** Isoblograma de la interacción entre Metamizol e Ibuprofeno en el test de la formalina orofacial, en la fase II. El (●) en la línea de aditividad representa el punto de aditividad teórica de la mezcla y el (○) el de la actividad experimental, cada uno con sus correspondientes LC al 95%.

**Tabla 3.** Valores de las ED<sub>50</sub> de ibuprofeno, metamizol y su combinación en el ensayo de la formalina orofacial al 2 %

Fármacos	DE <sub>50</sub> ±EEM (mg/kg i.p.)	
	Fase I	Fase II
<b>Ibuprofeno</b>	43,88 ± 6,22	30,13 ± 1,60*
<b>Metamizol</b>	12,02 ± 1,49 <sup>+</sup>	12,26 ± 3,07 <sup>+</sup>
<b>Ibuprofeno/Metamizol (T)</b>	27,95 ± 3,20	21,2 ± 1,73
<b>Ibuprofeno/Metamizol (EXP)</b>	6,25 ± 1,03 <sup>+</sup>	9,97 ± 0,85* <sup>+</sup>
<b>Índice de interacción</b>	0.22	0.47

Valores de las DE<sub>50</sub> con sus respectivos (EEM), para el efecto antinociceptivo de la administración intraperitoneal (i.p) de: ibuprofeno, metamizol y de la mezcla ibuprofeno/metamizol tanto teórico (T) como experimental (EXP); en las fases I y II del test de la formalina orofacial. \* P < 0.05 entre Fase I y Fase II; <sup>+</sup> P<0.05 entre ibuprofeno y metamizol y entre la mezcla teórica y experimental.

## Discusión

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que la administración intraperitoneal de ibuprofeno, metamizol y de su combinación producen una actividad nociceptiva dosis-dependiente en ambas fases del ensayo de formalina orofacial, observándose además una respuesta conductual de tipo bifásica común a todos los modelos de formalina. La primera fase corresponde a una estimulación directa de los nociceptores periféricos, en tanto la segunda involucra un periodo de sensibilización durante el cual ocurren fenómenos de síntesis de mediadores inflamatorios(27). Estos resultados concuerdan con la actividad antinociceptiva informada de estos fármacos en anteriores ensayos(18,30)

Ibuprofeno mostró una potencia 1.45 veces mayor en la Fase I respecto a la Fase II, mientras que metamizol registró una potencia analgésica similar en ambas fases del ensayo con formalina.

La combinación de metamizol e ibuprofeno mostró una interacción de tipo sinérgica en ambas fases, con una de potencia 1,6 veces mayor en la Fase II con respecto a la Fase I. El efecto sinérgico es similar al observado en estudios previos(30)

Los resultados obtenidos en el presente trabajo pueden atribuirse a diferentes capacidades de inhibición COX por parte de los fármacos combinados, así como la selectividad de los mismos por diferentes isoformas de COX. Así, el ibuprofeno es un inhibidor no selectivo de ambas isoformas de COX con mayor eficacia sobre COX-1, con acción nociceptiva en varios modelos de dolor



similares y un efecto medular y central observado similar al de otros AINES no selectivos, que sería sinérgico con las acciones de los agonistas  $\mu$ -opioides en la sustancia gris periacueductal (SGP), la cual sería independiente a la liberación de prostanoïdes(30,31,32).

Por otro lado, el mecanismo de acción del metamizol aún no es del todo comprendido. Se ha descrito que metamizol reduce la síntesis de prostaglandinas en la periferia y el SNC. Sin embargo, como produce antinocicepción en ausencia de respuesta inflamatoria, se sugiere una participación principal de mecanismos centrales, ya que la microinyección de metamizol en la SGP disminuye la respuesta de axones espinales ascendentes, subsecuente a la activación de fibras C periféricas y produce antinocicepción (33,34). Por otra parte, se ha informado que esta antinocicepción es debida a la activación de sistemas de control del dolor opioidérgicos descendentes, ya que este efecto puede ser parcialmente reducido por naloxona administrada sistémicamente o bien, microinyectada en el SNC(34). Además, ha sido informado que esta droga es capaz de estimular la liberación de  $\beta$ -endorfinas desde la glándula pituitaria y el hipotálamo, e interferir con la actividad nociceptiva del glutamato a nivel espinal(35). En relación a su efecto periférico, se ha sugerido que metamizol participaría en la modulación del dolor a nivel de la vía óxido nítrico/GMP<sub>c</sub> periféricamente y además en la espina dorsal(36). Otro tipo de evidencia farmacológica confirma que metamizol actuaría en canales de K<sup>+</sup> sensibles a Ca<sup>+2</sup> o bien a ATP, para producir su efecto antinociceptivo en un modelo de dolor inflamatorio (37,38). En los últimos años, se ha postulado que los principales mecanismo de acción del metamizol estarían relacionados a un efecto central mediado por la inhibición preferente de COX-3, así como a una inhibición de la actividad COX que, a diferencia de los

AINEs tradicionales (como es el caso del otro fármaco comparado en este estudio, el ibuprofeno) no está relacionada a la inhibición por competencia con el ácido araquidónico por el sitio catalítico de las COX, sino al secuestro de radicales que inician la actividad catalítica de esta enzima o mediante la reducción de los estados oxidados de la misma, inactivándola por la alteración de su estructura (39).

La interacción de tipo sinérgica resultante de la coadministración de metamizol e ibuprofeno concuerda en parte con la teoría general de interacción de fármacos, que establece que la combinación de fármacos es más efectiva cuando los agentes individuales actúan a través de mecanismos analgésicos diferentes; por lo tanto, la posibilidad de que actúen de forma sinérgica es mayor. Si bien ambos fármacos compartirían la función de inhibir las COX, esta acción es dispar. Aun no se comprende totalmente el mecanismo de acción de estos fármacos, en especial del metamizol. La evidencia experimental sugiere que el bloqueo de la síntesis de prostaglandinas en los tejidos periféricos no explica a cabalidad las acciones analgésicas de los AINEs, y efectos a nivel central han sido reportados en varios estudios.

Los mecanismos responsables del sinergismo en la actividad nociceptiva del metamizol con otros AINEs no son claros. Numerosos posibles mecanismos pueden explicar las interacciones sinérgicas entre los fármacos analgésicos, que implican prácticamente todos los niveles de la función celular. Algunas hipótesis podrían ser: que la administración conjunta de estos fármacos puede aumentar la afinidad de los AINEs por sus respectivas COX; la disminución en la tasa de eliminación de los AINEs; mejorar la activación de proteína G, con el consecuente aumento en la actividad del otro AINE, etc. Se pueden mencionar múltiples factores, pero en la actualidad el mecanismo íntimo es desconocido, no obstante, los beneficios terapéuticos son importantes. Esto es especialmente

cierto en el caso de metamizol, que ha sido un fármaco ampliamente castigado por su riesgo de alteraciones sanguíneas desde la publicación de diversos reportes, en especial en Suecia y Gran Bretaña (40,41). Si bien nuevos estudios, como el ya mencionado Informe Boston y el estudio de casos y controles sobre anemia aplásica en América Latina ("The LATIN Study") muestran que el riesgo real es mucho menor al reportado (20,42), e incluso algunos de los primero mencionados aceptan que las diferencias estadísticas entre estos informes podrían tener relación principalmente a una predisposición genética asociada a esas poblaciones(41), los temores persisten y es así como su uso está prohibido en EE.UU. y buena parte de Europa. La combinación de metamizol con otros AINEs, y la consiguiente baja en las dosis requeridas para obtener una buena analgesia, son de suma importancia para reposicionar su utilización en nuestro recetario. Por otro lado, y considerando que se encuentra en el recetario básico del servicio público en nuestro país, su uso en combinación con otros AINEs nos permitirá ofrecer a nuestros pacientes alternativas analgésicas de mejor calidad a un bajo costo.

## Conclusiones

- La administración de ibuprofeno o metamizol y su combinación, vía i.p, produce efecto antinociceptivo dosis dependiente, en el test algésimétrico de la formalina orofacial, tanto en la fase algésica (fase I) como en la fase algésica inflamatoria (fase II).
- La coadministración de ambos AINEs interactúan sinérgicamente en el test de la formalina orofacial.
- El obtener efectos sinérgicos al combinarlos permite reducir la dosis de ellos y sus potenciales efectos adversos.
- La sinergia obtenida podría deberse a la activación producida por los fármacos de sitios distintos en diferentes tipos de receptores, por actuar a distintos niveles o por distintos mecanismos para producir su efecto.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Bonica JJ. Anatomic and physiologic basis of nociception and pain. The management of pain. Segunda edición. NY USA, Lea & Febiger, 1990, 28-94.
- 2) Merskey H, Bogduk N. Classification of chronic pain. Seattle: 1994 IASP Press.
- 3) Millan M. The Induction of Pain: An Integrative Review. *Neurobiology*, 1999; 57:1.
- 4) McHugh JM, McHugh WB. Pain: neuroanatomy, chemical mediators, and clinical implications. *AACN Clin Issues*. 2000; 11: 168-78.
- 5) Dray A. Inflammatory Mediators of Pain. *British Journal of Anaesthesia*. 1995; 75:125-131.
- 6) Sawynor J. Topical and peripherally acting analgesics. *Pharmacol Rev.* , 2003; 55:1-20
- 7) Bjorkman R. Central antinociceptive effects of non-steroidal antiinflammatory drugs and paracetamol. Experimental studies in the rat. *Acta Anaesthesiol Scand.*, 1995; 103(Suppl):1-44.
- 8) Cashman JN. The mechanisms of action of NSAIDs in analgesia. *Drugs*. 1996; 52 (Suppl):13-23,.

- 9) Rolf-Detlef Treede, Kenshalo DR, Gracely R, Jones A. The cortical representation of pain. *Pain*. 1999;79:105-111.
- 10) Hardman JG, Limbird LE, Goodman Gilman A. (1996). Capítulo 27: Analgésicos-antipiréticos, antiinflamatorios y fármacos que se utilizan en el tratamiento de la gota. Goodman & Gilman, las bases farmacológicas de la terapéutica., 9 edición, México, D. F.: Ed. McGraw-Hill Interamericana 1996; pags. 661-695.
- 11) Vane J. Aspirin and other anti-inflammatory drugs. *Thorax* 2000; 55: 3-9.
- 12) Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *FASEB J* 2004; 18: 790-804.
- 13) Botting R. COX-1 and COX-3 inhibitors. *Thromb Res* 2003; 110: 269-72.
- 14) Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, Simmons DL. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 13926-13931
- 15) Hinz, B., Cheremina, O., Bachmakov, J., Renner, B., Zolk, O., Fromm, M. F., Brune, K. Dipyrene elicits substantial inhibition of peripheral cyclooxygenases in humans: new insights into the pharmacology of an old analgesic. *FASEB J*. 21, 2343–2351 (2007)

- 16) Willingale HL, Gardiner NJ, McLymont N, Giblett S, Grubb BD. Prostanoids synthesized by cyclo-oxygenase isoforms in rat spinal cord and their contribution to the development of neuronal hyperexcitability. *Br J Pharmacol* 1997; 122: 1593-1604.
- 17) Jeske AH. Selecting new drugs for pain control: evidence-based decisions or clinical impressions? *J Am Dent Assoc* 2002; 133: 1052-1056.
- 18) Mazario J, Gaitan G, Herrero JF. Cyclooxygenase-1 vs Cyclooxygenase-2 inhibitors in the induction of antinociception in rodent withdrawal reflexes. *Neuropharmacology* 2001; 40: 937-946.
- 19) Carabaza A, Cabré F, García AM, Rotllan E, García ML, Mauleón D. Stereoselective inhibition of rat brain cyclooxygenase by dexketoprofen. *Chirality* 1997; 9(3): 281-285.
- 20) The International Agranulocytosis and Aplastic Anemia Study Group. Risks of agranulocytosis and aplastic anemia: a first report of their relation to drug use with special reference to analgesics. *JAMA* 1986; 256: 1749–57.
- 21) Carlsson, K. H., Helmreich, J., and Jurna, I. Activation of inhibition from the periaqueductal grey matter mediates central analgesic effect of metamizol (dipyrone). *Pain* 27, 1986, 373–390
- 22) Haiping H., Guangji W., Jianguo S. Enantioselective pharmacokinetics of ibuprofen and involved mechanisms. *Drug Metabolism Reviews*. 1:215-234, 2005

- 23) Chen. H, Zhang. SM, Henian MA, Schwarzschild MA, Willett WC., Colditz GA, Speizer FE, Ascherio.A. (2003). Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the risk of Parkinson disease. *Arch. Neurol.* 60(8):1059-1064.
- 24) Sivak-Sears NR, Schwartzbaum JA, Miike R, Moghadassi M, Wrensch M. Case-control study of use of nonsteroidal antiinflammatory drugs and glioblastoma multiforme. *Am. J. Epidemiol.* 2004; 159(12): 1131 - 1139
- 25) Raffa RB. Pharmacology of oral combination analgesics: rational therapy for pain. *J Clin Pharm Ther.* 2001; 26: 257-264
- 26) Raboisson P, Dallel R. The orofacial formalin test. *Neurosci Biobehav Rev* 2004; 28: 219-226.
- 27) Le Bars D, Gozariu M, Cadden SW. Animal models of nociception. *Pharmacol Rev* 2001; 53: 597-652
- 28) Luccarini P, Childeric A, Gaydier A-M, Voisin D, Dallel R. The orofacial formalin test in mouse: a behavioral model for studying physiology and modulation of trigeminal nociception. *J Pain* 2006; 12: 908-914.
- 29) Tallarida RJ. Murray RB. "Manual of pharmacologic calculations with computer programs". Second edition, Springer-Verlag, New York, 1986.
- 30) Miranda HF, Sierralta F, Prieto JC. Synergism between NSAIDs in the orofacial formalin test in mice. *Neurosci Biobehav Rev* 2009; 92: 314-318.



- 31) Vane JR, Bakhle YS, Botting RM. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1998. 38:97–120
- 32) Christie MJ, Connor M, Vaughan CW, Ingram SL, Bagley EE. Cellular actions of opioids and other analgesics: implications for synergism in pain relief. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 200; 27: 520-523.
- 33) Carlsson KH, Jurna I. The role of descending inhibition in the antinociceptive effects of the pirazolone derivatives, metamizol (dypirone) and aminophenazone ("Pyramidon"). *Naunyn Schmiederbergs Arch Pharmacol.* 1987; 335(2):154-9
- 34) Hernandez N, Vanegas H. Antinociception induced by PAG-microinjected dypirone (metamizol) in rats: involvement of spinal endogenous opioids. *Brain Res* 2001; 896(1-2): 175-8.
- 35) Beirith A, Santos AR, Rodrigues AL, Creczynski-Pasa TB, Calixto JB. Spinal and supraspinal antinociceptive action of dipyron in formalin, capsaicin and glutamate tests. Study of the mechanism of action. *Eur J Pharmacol.* 1998 Mar 26;345(3):233-45.
- 36) Lorenzetti BB, Ferreira SH. Activation of the arginine-nitric oxide pathway in primary sensory neurons contributes to dipyron-induced spinal and peripheral analgesia. *Inflamm Res.* 1996 Jun;45(6):308-11.
- 37) Ortiz MI, Castañeda-Hernández G, Granados-Soto V. Possible involvement of potassium channels in peripheral antinociception induced by metamizol: lack

of participation of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels. *Pharmacol Biochem Behav.* 2003 Jan;74(2):465-70.

38) Alves D, Duarte I. Involvement of ATP-sensitive K(+) channels in the peripheral antinociceptive effect induced by dipyron. *Eur J Pharmacol.* 2002 May 24;444(1-2):47-52.

39) Pierre SC, Schmidt R, Brenneis C, Michaelis M, Geisslinger , Scholich GK. Inhibition of Cyclooxygenases by Dipyron. *Br J Pharmacol.* 2007 Jun; 151(4): 494-503

40) Bäckström M, Hägg S, Mjörndal T, Dahlqvist R. Utilization pattern of metamizole in northern Sweden and risk estimates of agranulocytosis. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2002 Apr-May;11(3):239-45.

41) Hedenmalm K, Spigset O. Agranulocytosis and other blood dyscrasias associated with dipyron (metamizole). *Eur J Clin Pharmacol.* 2002 Jul;58(4):265-74.

42) Maluf E, Hamerschlak N, Cavalcanti AB, Avezum Júnior Á, Eluf-Neto J, Passetto FalcãoR, Lorand-Metze IGH, Goldenberg D, Leite Santana C, de Oliveira Werneck Rodrigues D, Nascimento da Motta Passos L, Mange Rosenfeld LG, Pitta M, Loggetto S, Feitosa Ribeiro AA, Velloso ED, Kondo AT, de Miranda Coelho EO, Tostes Pintão MC, Moraes de Souza H, Borbolla JR, and Pasquini R. Incidence and risk factors of aplastic anemia in Latin American countries: the LATIN case-control study. *Haematologica* 2009;94:1220-1226.

## Resumen

El dolor en general, y el orofacial en particular, es uno de los principales desafíos a los que se enfrenta el odontólogo en su quehacer diario. El uso de AINEs es el principal recurso para su alivio, y su combinación puede generar terapias más efectivas a menores dosis, reduciendo los secundarios de cada uno por separado. En el presente trabajo se estudió la interacción para la combinación de metamizol e ibuprofeno. Se utilizaron ratones a los que se inyectó de forma i.p. ya sea solución salina (grupo control), uno de los AINEs o una combinación de ambos. Luego se les inyectó en el labio superior 20  $\mu$ l de formalina al 2%, produciendo una respuesta dolorosa bifásica (fase I algésica, fase II algésica-inflamatoria) y se calculó la  $DE_{50}$  para cada AINE utilizado. La interacción entre ambos fármacos se realizó mediante el estudio isobolográfico.

Metamizol, ibuprofeno y su combinación indujeron antinocicepción dosis-dependiente en ambas fases. Los resultados del isobograma mostraron una interacción de tipo sinérgica entre ambos fármacos en ambas fases de la respuesta dolorosa.

La combinación de metamizol e ibuprofeno permite un mejor control del dolor con menores dosis de ambos, reduciendo potenciales efectos adversos. El hecho de ser fármacos de bajo costo, además, permite su uso a nivel de servicios públicos.